植 物 分 类 学 报 44 (5): 481–487(2006) doi:10.1360/aps050076
Acta Phytotaxonomica Sinica http://www.plantsystematics.com

野黄瓜与栽培黄瓜正反交异源四倍体序列消除的初步研究

陈龙正 陈劲枫* 娄群峰 杨寅桂 庄 勇

(作物遗传与种质创新国家重点实验室, 南京农业大学园艺学院 南京 210095)

Preliminary studies on sequence elimination of reciprocal allotetraploids from *Cucumis hystrix* and *C. sativus*

CHEN Long-Zheng CHEN Jin-Feng* LOU Qun-Feng YANG Yin-Gui ZHUANG Yong

(*State Key Laboratory of Crop Genetics and Germplasm Enhancement, College of Horticulture,
Nanjing Agricultural University*, Nanjing 210095, China)

Abstract During diploidization, sequence elimination in reciprocal allopolyploids often appears variable in different species, suggesting that the nuclear-cytoplasmic interactions play different roles in different polyploid plants. In this study, an amplified fragment length polymorphism (AFLP) analysis was carried out by using thirteen pairs of *Eco*RI-NN/*Mse*I-NNN selective primers in amplification of the DNAs from reciprocal F_1 hybrids of *Cucumis hystrix* and *C. sativus*, the synthetic allotetraploids and the diploid parents. The results indicated that extensive DNA sequence elimination was induced by the genomic merge in the allopolyploids. The frequency of elimination of some parental sequences was affected by cytoplasmic factors, the differences from reciprocal crosses were not statistically significant, and the time of elimination (both started in the F_1) and the type of elimination were also the same, suggesting that the nuclear-cytoplasmic interactions might not be the main factor causing sequence elimination. In addition, the direction of sequence elimination was not affected by the reciprocal crosses, and the elimination was more common from the *C. sativus* which has fewer chromosomes.

Key words *Cucumis*, interspecific hybridization, reciprocal cross, allopolyploidy, sequence elimination.

摘要 不同分类群的异源多倍体在二倍化过程中, 正反交序列消除往往表现出不同特征, 暗示了在不同物种中, 核质互作在多倍体进化过程的作用不同。利用13对*Eco*RI-NN/*Mse*I-NNN选择性引物, 对野黄瓜*Cucumis hystrix* (2*n*=24)与栽培黄瓜*C. sativus* (2*n*=14)的正反交F_1、异源四倍体及二倍体亲本DNA进行AFLP分析。结果表明: 杂交后代基因组的杂合性诱发了F_1与异源四倍体广泛的序列消除; 细胞质可能会影响部分亲本序列消除的频率, 但是正反交在序列消除频率上差异不显著, 并且在序列消除时间(均始于F_1代)及消除类型上也表现出一致性, 表明核质互作并不是影响序列消除的主要因素; 实验还发现, 正反交不能影响序列的倾向性丢失, 染色体数少的黄瓜条带易发生丢失。

关键词 甜瓜属; 种间杂交; 正反交; 异源多倍体; 序列消除

甜瓜属*Cucumis* L.野黄瓜*C. hystrix* Chakr.(2*n*=24)是1989年在我国云南省发现和采集

2005-05-09 收稿, 2005-09-29 收修改稿。

基金项目: 国家自然科学基金(30470120); 国家高技术研究发展计划专项经费(2002AA241251, 2002AA207012, 2004AA241120)(Supported by the National Natural Science Foundation of China, Grant No. 30470120, and the National High Technology Research and Development Program of China, Grant Nos. 2002AA241251, 2002AA207012, 2004AA241120)。

* 通讯作者(Author for correspondence. E-mail: jfchen@njau.edu.cn)。

的一个原产我国的珍稀野生种(Chen et al., 1994)，由于其与栽培黄瓜(*C. sativus* L., $2n$=14)之间特殊的系统关系(Chen et al., 1995)而受到关注。在与黄瓜种间杂交(Chen et al., 1997)的基础上，通过体细胞突变无性系变异(somaclonal variation)途径加倍杂种染色体(Chen et al., 1998)，获得了人工异源四倍体(allotetraploid)新种质——*C. hytivus* Chen & Kirkbride, $2n$=38(Chen & Kirkbride, 2000)，为多倍体研究提供了新的模式。

多倍化(polyploidization)是植物进化中的自然现象，是促进植物进化的主要动力之一。植物在经历多倍化后，尤其是异源多倍体，常常伴随着广泛而迅速的二倍化过程(diploidization)。在此过程中多倍体基因组发生了广泛的遗传(genetic)与表观遗传(epigenetic)变化，包括基因组序列消除(Liu & Wendel, 2002)、染色体水平和DNA水平的结构重排(Leitch & Bennett, 1997; Wendel et al., 1995)、基因表达调控的调整(Galitski et al., 1999)、转座子的活动(Fedoroff, 2000)等。异源多倍体基因组序列消除不仅增加了部分同源(homoeologous)染色体之间的差异，减少了多价体的形成和不平衡配子的产生频率，从而有利于该新物种的生殖；而且可以提高核基因组与细胞质之间的相容性水平，促进核质相互协调，重建和谐平衡的核质关系，使多倍体稳定与进化，促进它在自然界的成功建立(Feldman et al., 1997)。

在异源多倍体形成过程中，不同分类群正反交表现出不同的特征。已有证据表明，由于正反交异源多倍体细胞质背景不同，正反杂交序列消除往往表现出巨大差异，如芸薹属*Brassica* L. (Song et al., 1995)、山羊草属*Aegilops sharonensis*-*Ae. umbellulata* (Shaked et al., 2001)等，在异源多倍体形成之后，序列消除在某种程度上倾向于来自其中一个亲本基因组序列。而在小麦属*Aegilops*-*Triticum* (Liu et al., 1998a, b; Ozkan et al., 2001)中，通过交互杂交并没有发现基因组变化的不同，表明细胞质没有在决定消除的方向上起作用，暗示了序列消除与核质互作无关。细胞质也许会对进入同一个核中的不同基因组之间的比例施加选择压力，通过建立一个和谐的核质关系而使新产生的异源多倍体稳定下来。我们的初步研究表明，正反交异源多倍体在植株形态和育性方面表现出较大的差异(Chen et al., 2004)。本研究以正反交甜瓜属人工异源四倍体及其相应二倍体为试材，利用AFLP技术研究甜瓜属人工异源多倍体早期(F_1及S_0代)基因组在野黄瓜及普通黄瓜两种不同细胞质环境下，序列消除在频率、起始时间、类型等方面的差异，为进一步探讨细胞质对甜瓜属人工异源多倍体基因组进化过程中的作用奠定基础。

1 材料和方法

1.1 材料

Chen等(1997)首次成功地实现了甜瓜属栽培黄瓜“北京截头”(*C. sativus* cv. Beijingjietou, $2n$=14, CC)与野生种野黄瓜(*C. hystrix*, $2n$=24, HH)的种间杂交，通过胚胎拯救获得了原初二倍体($2n$=19, HC/CH, F_1)植株，但其染色体数为奇数，减数分裂不正常，雌花和雄花高度不育。随后，在正反交的基础上应用体细胞突变的方法，获得了染色体加倍的原生双二倍体杂种(Chen et al., 1998)($2n$=38, HHCC/CCHH, S_0)(表1)。

1.2 **AFLP**分析

AFLP分析主要参考Vos等(1995)的方法，条带的显示采用银染法。

表**1**　实验材料
Table 1　Materials used in the study

基因组 Genome	基因型 Genotype	染色体数 Chromosome number
HH	野黄瓜 *C. hystrix*	$2n=2x=24$
CC	北京截头黄瓜 *C. sativus* cv. Beijingjietou	$2n=2x=14$
CH(F_1)	反交二倍体 F_1 (*C. sativus*×*C. hystrix*)	$2n=2x=19$
CCHH(S_0)	反交双二倍体 Chromosome-doubled F_1 (*C. sativus*×*C. hystrix*)	$2n=4x=38$
HC(F_1)	正交二倍体 F_1 (*C. hystrix*×*C. sativus*)	$2n=2x=19$
HHCC(S_0)	正交双二倍体 Chromosome-doubled F_1 (*C. hystrix*×*C. sativus*)	$2n=4x=38$

1.2.1　基因组DNA的提取和DNA池的构建　基因组DNA提取采用CTAB法(Murray & Thompson, 1980)。利用琼脂糖凝胶电泳和溴化乙淀显色进行DNA浓度的定量。所有材料DNA均为群体混合取样, 每群体至少10株。

1.2.2　酶切和接头的连接　取0.5 μg基因组DNA, 采用*Eco*RI和*Mse*I进行双酶切。酶切后与*Eco*RI和*Mse*I接头连接。*Eco*RI和*Mse*I接头序列为: *Eco*RI接头: 5′-CTCGTAGACTGCGTACC-3′与3′-CATCTGACGCATGGTTAA-5′, *Mse*I接头: 5′-GACGATGAGTCCTGA-3′与3′-TACTCAGGACTCAT-5′。

1.2.3　酶切连接产物的扩增　取5 μL酶切连接产物为模板进行预扩增。预扩增程序为: 94 ℃ 1 min, 56 ℃ 1 min, 72 ℃ 1 min, 36个循环; 72 ℃延伸7 min。

预扩增产物1:30稀释, 作为选择性扩增的模板。选择性引物组合共13对, 由3个带两个选择性碱基的*Eco*RI-NN引物和7个带3个选择性碱基的*Mse*I-NNN引物组成。选择性扩增程序为: 94 ℃预变性30 s; 94 ℃ 30 s, 65 ℃ 30 s, 72 ℃ 120 s, 然后每个循环退火温度降低0.7 ℃, 经13个循环后, 退火温度降至56 ℃; 再进行23个循环的扩增: 94 ℃ 30 s, 56 ℃ 30 s, 72 ℃ 120 s。

扩增反应在PTC-100 PCR仪上进行。所用预扩增和选择性扩增引物序列见表2。

表**2**　AFLP预扩增和选择性扩增引物序列
Table 2　Pre-amplification and selective amplification primer sequences used in AFLP

预扩增引物Primers for pre-amplification			
E00	5′-GACTGCGTACCAATTC-3′	M00	5′-GATGAGTCCTGAGTAA-3′
选择性引物Primers for selective amplification			
E-AA	5′-GACTGCGTACCAATTCAA-3′	M-CAG	5′-GATGAGTCCTGAGTAACAG-3′
E-AC	5′-GACTGCGTACCAATTCAC-3′	M-CAT	5′-GATGAGTCCTGAGTAACAT-3′
E-AG	5′-GACTGCGTACCAATTCAG-3′	M-CTC	5′-GATGAGTCCTGAGTAACTC-3′
M-CAA	5′-GATGAGTCCTGAGTAACAA-3′	M-CTG	5′-GATGAGTCCTGAGTAACTG-3′
M-CAC	5′-GATGAGTCCTGAGTAACAC-3′	M-CTT	5′-GATGAGTCCTGAGTAACTT-3′

1.2.4　变性聚丙烯酰胺凝胶电泳　选择性扩增产物在6%的变性聚丙烯酰胺凝胶(6%丙烯酰胺, 0.32%甲叉丙烯酰胺, 7 mol/L尿素, 1×TBE)中电泳分离。电泳缓冲液为1×TBE, 恒功率60 W预电泳30 min后, 将扩增产物加入等体积的上样缓冲液(98%甲酰胺, 10 mmol/L EDTA, 0.25%溴酚蓝, 0.25%二甲苯氰)95 ℃变性5 min后, 立即转移至冰浴中冷却, 然后每个样品取8 μL上样, 60 W电泳2–3 h。

1.2.5 银染 电泳后，小心分开两块玻璃板，将附着凝胶的长玻璃板放入10% CH_3COOH中固定30 min；后用去离子水漂洗2次，每次5 min；然后转入染色液(2 g $AgNO_3$, 3 mL 37% HCHO溶于2 L去离子水)中染色30 min，后用2 L去离子水快速漂洗5–6 s，立即转入显影液(60 g Na_2CO_3, 3 mL 37% HCHO, 400 μL 10% $Na_2S_2O_3$溶于2 L去离子水)中，轻摇至条带清晰后，加入等体积的10% CH_3COOH停显，约10 min后用去离子水漂洗干净。自然干燥保存。

1.3 数据统计与处理

每对引物做3次重复，重复结果一致时，以“0”和“1”统计各位点条带。总条带数为扩增条带总数；亲本特异性条带数为亲本所特有的条带数。缺失野黄瓜(普通黄瓜)条带百分率(%)=缺失野黄瓜(普通黄瓜)条带数/总条带数×100%。用SPSS(11.5)软件进行差异显著性分析。

2 结果和分析

2.1 正反交亲本序列丢失特点

F_1及加倍后的异源四倍体基因组发生了部分亲本序列消除。用13对选择性引物对亲本及正反交后代进行扩增，得到野黄瓜与普通黄瓜条带总数分别为760条和773条，其中野黄瓜特异性条带数为107条，而普通黄瓜特异性条带数为120条，两者共有条带数为653条。理论上杂交后代条带数应该为880(653＋107＋120)条，但从表3可以看出杂交后代条带数均少于理论值，说明甜瓜属人工异源多倍体在多倍化过程中，F_1及加倍后的多倍体基因组发生了部分亲本序列消除。

表3 异源多倍体及早期世代序列消除特点*
Table 3 Sequence elimination in allopolyploid and the progenies*

试材 Code	总条带数 Total No. of bands	特异条带数 No. of genomic-specific bands	缺失野黄瓜条带 Band loss of *C. hystrix*		缺失黄瓜条带 Band loss of *C. sativus*	
			数量(条) Band number	百分率(%) Ratio	数量(条) Band number	百分率(%) Ratio
HH	760	107	–	–	–	–
CC	773	120	–	–	–	–
HC	786	–	44bAB	5.6	82aA	10.4
HHCC	795	–	40bAB	5.2	84aA	10.6
CH	800	–	27bB	3.3	74aA	9.3
CCHH	799	–	29bB	3.6	74aA	9.3

*采用Duncan分析方法，大写字母为$P<0.01$，小写字母为$P<0.05$。
* Using Duncan analysis, with the capital and lower case letters showing $P<0.01$ and $P<0.05$, respectively.

同一基因组在不同细胞质环境下，虽然杂交后代丢失双亲序列的频率不同，但是差异分析不显著。在*C. hystrix*×*C. sativus*中，F_1(细胞质背景为*C. hystrix*)丢失野生种条带40条，丢失百分率为5.2%，丢失普通黄瓜条带82条，丢失百分率为10.4%。而在*C. sativus*×*C. hystrix*中，F_1(细胞质背景为*C. sativus*)丢失野生种条带27条(3.3%)，丢失普通黄瓜条带

74条(9.3%), 即在不同细胞质环境下, 后代丢失同一亲本序列频率不同, 说明在多倍化过程中, 异源多倍体基因组序列消除确实与细胞质有一定的关系。但是分析发现, F_1丢失野生种(普通黄瓜)序列频率, 在正反杂交中(即不同细胞质背景下)表现差异不显著, 同时正反交异源四倍体也具有相同的结果。表明细胞质虽然可能会在一定程度上影响亲本序列的消除, 但不是影响甜瓜属异源多倍体早期基因组序列消除的主要因素。

研究发现, 正反交F_1($2n=19$)及基因组加倍获得的正反交异源四倍体($2n=38$)在丢失双亲序列上基本相同。在*C. hystrix*×*C. sativus*中, F_1代丢失双亲序列总数(缺失野黄瓜条带+缺失普通黄瓜条带)为126(44+82)条, 占总序列的16.0%(5.6%+10.4%), 与基因组加倍后异源四倍体丢失双亲序列总数124(40+84)条, 占总序列的15.8%(5.2%+10.6%)基本接近。同样, 在*C. sativus*×*C. hystrix*中, F_1及加倍后形成的异源四倍体在丢失双亲序列频率上也基本相同。说明多倍体基因组序列消除可能不是由基因组加倍导致的, 而是因为在远缘杂交过程中产生的基因组杂合性诱发了基因组序列的消除。

分析发现, 在正反交F_1及异源四倍体中, 普通黄瓜序列消除要多于野生种。在*C. hystrix*×*C. sativus*中, F_1及异源四倍体丢失普通黄瓜的条带数分别为82条(10.4%)和84条(10.6%), 要多于丢失野黄瓜的条带数44条(5.6%)和40条(5.2%), 差异分析达显著水平; 同样在*C. sativus*×*C. hystrix*中, F_1及异源四倍体丢失普通黄瓜的条带数多于野黄瓜, 差异达到极显著水平。说明在野黄瓜与普通黄瓜种间杂交的异源四倍体中, 多倍化早期阶段易于丢失染色体数比较小的普通黄瓜基因组序列(野生种$2n=24>$普通黄瓜$2n=14$)。

2.2　正反交对亲本序列丢失时间及类型的影响

在亲本序列消除的类型上, 正反交异源四倍体表现出一致性。在多倍化早期阶段, 正反交均能观察到亲本序列变化的各种类型, 如亲本序列的完全丢失(在杂种F_1及后代中均发生亲本序列的丢失)、部分丢失(在杂种F_1代中能够看到亲本序列, 但随后发生丢失)以及隔代遗传等。如图1A 493 bp(反交组合)与图1B 340 bp(正交组合)普通黄瓜条带均表现为部分丢失。在图1C 200 bp处, 正反交后代中普通黄瓜条带发生完全丢失。图1A 513 bp处, 反交组合中普通黄瓜在F_1中表现为消除, 但是加倍后重现, 表现为隔代遗传的特点, 同样在正交组合中(图1B 300 bp)普通黄瓜条带也表现出隔代遗传的特点。

图 1　亲本与正反交杂种的AFLP图谱　**A.** 引物AA/CTC, 493 bp处发生亲本条带的部分丢失; 513 bp处普通黄瓜条带在F_1发生丢失, 加倍后重新出现. **B.** 引物AA/CTC, 340 bp处发生亲本条带的部分丢失; 300 bp处普通黄瓜条带在F_1丢失, 加倍后重新出现. **C.** 引物AG/CTC, 200(185) bp处发生亲本条带的完全丢失。

Fig. 1. Electrophoresis patterns of AFLP products in parents and their reciprocal hybrids. **A,** Primer AA/CTC: Partial loss of parental bands (493 bp); parental bands were lost in F_1, but reappeared after the polyploid formation (513 bp). **B,** Primer AA/CTC: Parental bands were lost in F_1, but reappeared after the polyploid formation (300 bp); partial loss of parental bands (340 bp). **C,** Primer AG/CTC: Complete loss of parental bands (*C. sativus*: 200 bp; *C. hystrix*: 185 bp).

正反交在序列丢失起始时间上也具有一致性，均表现为始于F_1代。从图1C可以看到在200 bp处普通黄瓜条带在正交二倍体(HC)即已经发生丢失，随后加倍得到的四倍体(HHCC)也表现为序列的丢失。在相同位点，反交二倍体(CH)及相应的四倍体(CCHH)也同样表现出该序列的丢失。在图1C 185 bp处野黄瓜条带在正反交二倍体及四倍体中也均表现为丢失。

3 讨论

本研究的结果表明杂交后代不能完全继承双亲条带，说明甜瓜属人工异源四倍体(*C. hystrix*-*C. sativus*)在多倍化过程中发生了部分基因组序列的消除。Axelsson等(2000)研究发现多倍体基因组序列消除频率与其亲本基因组间差异有关。Song等(1995)发现序列消除与细胞质背景及亲本亲缘关系远近有一定关系。但在小麦族的研究中表明，序列消除与亲本杂合性(亲本不纯)、亲本基因型、细胞质背景、多倍体倍性、基因组间重组等无关(Shaked et al., 2001; Liu et al., 1998b)。我们的研究发现，正反交F_1及基因组加倍获得的正反交异源四倍体在丢失双亲序列频率上基本相同。说明在甜瓜属人工异源四倍体(*C. hystrix*-*C. sativus*)中，由于在远缘杂交过程中将亲缘关系不同的基因组组合到同一核中，导致了多倍体基因组的杂合性，从而诱发了亲本序列的消除。

Song等(1995)研究了芸苔属不同种间正反交后代序列消除的差异，发现亲本亲缘关系远的杂种较亲缘关系近的杂种更易受正反交的影响。如*Brassica rapa* L.与*B. nigra* (L.) W. D. J. Koch的正反杂交组合中，其产生的异源多倍体*B. juncea* (L.) Czern. & Coss序列消除倾向于来自父本基因组，但在*B. rapa*与*B. oleracea* L.中却没有发现偏向性丢失，进一步研究表明*B. rapa*与*B. nigra*的亲缘关系较*B. rapa*与*B. oleracea* L.远。Chen等(1995)的研究证实，野黄瓜染色体数($2n$=24)虽与甜瓜($2n$=24)相同，但其亲缘关系却与普通黄瓜更近。在一定程度上说明野生种可能与普通黄瓜本身具有较高的核质相容性水平。本研究中，虽然细胞质在一定程度上影响了亲本序列的消除，但是通过差异分析(表3)发现，野黄瓜(普通黄瓜)无论是作为父本还是作为母本其序列消除频率并没有表现出差异，而且在正反杂交序列消除起始时间及变化类型上具有一致性。这在一定程度上暗示了核质互作并不是影响甜瓜属异源四倍体(*C. hystrix*-*C. sativus*)早期基因组序列消除的主要因素。

本研究还发现，在野黄瓜与黄瓜种间杂种F_1及异源四倍体中，不论正交还是反交，普通黄瓜亲本序列消除均多于野黄瓜。根据Wendel(2000)的研究，序列消除方向可能与多倍体双亲染色体数多少有关，染色体数少的亲本序列消除更为普遍。因而普通黄瓜较多的序列消除也可能与其染色体数目少于野黄瓜有关。从系统演化的角度来看，根据Zohary和Feldman(1962)的“核心基因组”(core genome)假说，进化程度较高的物种，基因组对丢失位点具有补偿效应。而比较原始的物种，由于基因功能单一，位点丢失对整体基因组功能易造成较大影响。因此在某种程度上较进化的物种基因组序列消除对基因组冲击(genomic shock)较小。本实验的结果是否暗示了野生种比较原始，而普通黄瓜比较进化，还有待进一步的研究。

参 考 文 献

Axelsson T, Bowman C M, Sharpe A G, Lydiate D J, Lagercrantz U. 2000. Amphidiploid *Brassica juncea* contains conserved progenitor genomes. Genome 43: 679–688.

Chen J F, Zhuang F Y, Liu X A, Qian C T. 2004. Reciprocal differences of morphological and DNA characters in interspecific hybridization in *Cucumis*. Canadian Journal of Botany 81: 16–21.

Chen J F, Kirkbride J Jr. 2000. A new synthetic species of *Cucumis* (Cucurbitaceae) from interspecific hybridization and chromosome doubling. Brittonia 52: 315–319.

Chen J F, Staub J E, Jiang J M. 1998. A reevaluation of karyotype in cucumber (*Cucumis sativus* L.). Genetic Resources and Crop Evolution 45: 301–305.

Chen J F, Staub J E, Tashiro Y, Isshiki S, Miyazaki S. 1997. Successful interspecific hybridization between *Cucumis sativus* L. and *Cucumis hystrix* Chakr. Euphytica 96: 413–419.

Chen J F, Isshiki S, Tashiro Y, Miyazaki S. 1995. Studies on a wild cucumber from China (*Cucumis hystrix* Chakr.). I. Genetic distance between *C. hystrix* and two cultivated *Cucumis* species (*C. sativus* L. and *C. melo* L.) based on isozyme analysis. Journal of Japan Society for Horticulture Science 64 (Suppl. 2): 264–265.

Chen J F, Zhang S, Zhang X. 1994. The Xishuangbanna gourd (*C. sativus* var. *xishuangbannesis* Qi et Yuan), a traditionally cultivated plant of the Hainai people, Xishuangbanna, Yunnan, China. Cucurbit Genetics Cooperative Report 17: 18–20.

Fedoroff N. 2000. Transposons and genome evolution in plants. Proceedings of National Academy of Sciences, USA 97: 7002–7004.

Feldman M, Liu B, Sehgal G, Abbo S, Levy A A, Vega J M. 1997. Rapid elimination of low copy DNA sequences in polyploid wheat: a possible mechanism for differentiation of homoeologous chromosomes. Genetics 147: 1381–1387.

Galitski T, Saldanha A J, Style C A, Saldanha A J, Style C A, Lander E S, Fink G R. 1999. Ploidy regulation of gene expression. Science 285: 251–254

Leitch I J, Bennett M D. 1997. Polyploidy in angiosperms. Trends in Plant Science 2: 470–476.

Liu B, Vega J M, Segal G, Abbo S, Rodova M, Feldman M. 1998a. Rapid genomic changes in newly synthesized amphiploids of *Triticum* and *Aegilops* I. Changes in low-copy non-coding DNA sequences. Genome 41: 272–277.

Liu B, Vega J M, Feldman M. 1998b. Rapid genomic changes in newly synthesized amphiploids of *Triticum* and *Aegilops*. II. Changes in low-copy coding DNA sequences. Genome 41: 535–542.

Liu B, Wendel J F. 2002. Non-mendelian phenomena in allopolyploid genome evolution. Current Genomics 3: 489–505.

Murray H G, Thompson W F. 1980. Rapid isolation of higher weight DNA. Nucleic Acids Research 8: 4321.

Ozkan H, Levy A, Feldman M. 2001. Allopolyploid-induced rapid genomic evolution in the wheat (*Aegilops-Triticum*) group. Plant Cell 13: 1735–1747.

Song K, Lu P, Tang K, Osborn T C. 1995. Rapid genome change in synthetic polyploids of *Brassica* and its implications for polyploid evolution. Proceedings of National Academy of Sciences, USA 92: 7719–7723.

Shaked H, Kashkush K, Ozakan H, Feldman M, Levy A A. 2001. Sequence elimination and cytosine methylation are rapid and reproducible responses of the genome to wide hybridization and allopolyploidy in wheat. Plant Cell 13: 1749–1759.

Wendel J F, Schnabel A, Seelanan T. 1995. Bidirectional interlocus concerted evolution following allopolyploid speciation in cotton (*Gossypium*). Proceedings of National Academy of Sciences, USA 92: 280–284.

Wendel J F. 2000. Genome evolution in polyploids. Plant Molecular Biology 42: 225–249.

Vos P, Hoger R, Bleeker M. 1995. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. Nucleic Acids Research 23: 4407–4414.

Zohary D, Feldman M. 1962. Hybridization between amphidiploids and the evolution of polyploids in the wheat (*Aegilops-Triticum*) group. Evolution 16: 44–61.